Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 17, No. 3, Fall. 2019, p. 457-465

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۷، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۸، ص. ۴۶۵-۴۵۷

بررسی امکان جایگزینی پودر خون به‌جای مصرف کود سکسترین آهن در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa Officinalis* L.)

وحید محصلی[1*]، فرزاد فربود[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۱/۲۵

چکیده

کمبود آهن در گیاهان عمدتاً در خاک‌های آهکی و قلیایی مشاهده می‌شود. با توجه به این که شرایط شیمیایی این خاک‌ها علت اصلی بروز کلروزآهن می‌باشد و از طرفی به‌دلیل گران بودن کودهای آلی حاوی آهن لذا استفاده از ترکیبات آلی طبیعی و غنی شده از آهن مانند پودر خون نیز می‌تواند در برطرف نمودن کلروز آهن موثر باشد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی توان پودر خون در تأمین آهن مورد نیاز گیاه بادرنجبویه بود. آزمایش فوق با سه سطح آهن (صفر، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک) از منبع سکسترین آهن و چهار سطح پودر خون (صفر، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ گرم پودر خون در کیلوگرم خاک) بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa Officinalis* L.) اجرا گردید. پس از اتمام دوره رشد رویشی، وزن ماده خشک، غلظت آهن، کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها و میزان اسانس گیاه اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که کاربرد کود آهن و پودر خون سبب افزایش معنی‌داری در وزن خشک، غلظت آهن، کلروفیل، کاروتنوئیدها و عملکرد اسانس در گیاه بادرنجبویه گردید. حداکثر وزن خشک گیاه ۱۴۱/۴ گرم در گلدان در شرایط مصرف کود آهن و پودر خون به‌ترتیب به میزان ۲/۵ میلی‌گرم و ۱/۵ گرم در کیلوگرم به‌دست آمد. مصرف پودر خون در سطوح اول، دوم و سوم آهن به‌ترتیب سبب ۱۳/۸، ۶/۸ و ۱۱/۷ درصد افزایش در غلظت آهن گیاه شد. کاربرد آهن و پودر خون به‌ترتیب به میزان ۵ میلی‌گرم و ۳ گرم در کیلوگرم سبب افزایشی معادل ۲۴۱/۷ درصد در میزان اسانس گیاه نسبت به شاهد گردید. همچنین مصرف همین میزان آهن و پودر خون باعث تولید حداکثری عملکرد اسانس (۳۰۸/۵ درصد افزایش نسبت به شاهد) شد.

واژه‌های کلیدی: آهن، ترکیبات آلی، میزان و عملکرد اسانس، وزن خشک

مقدمه

خون با دارا بودن مقدار زیادی آهن و ایجاد وضعیت اسیدی در خاک می‌تواند تأثیر مفیدی بر انحلال بیشتر ترکیبات آهن داشته باشد (Mortvedt, 1986). معمولاً یک کیلوگرم خون دارای ۳۰-۲۰ گرم آهن به‌صورت فروس (Fe^{2+}) در گروه هم از مولکول هموگلوبین می‌باشد بنابراین استفاده از آن به‌عنوان یک منبع موثر در تامین آهن گیاه توصیه می‌گردد (Yunta *et al.*, 2013). خون که حدود ۸-۲/۴ درصد از وزن زنده بدن دام‌ها را شامل می‌شود منبع ارزشمندی از آهن آلی می‌باشد. در میان کودهای آلی، پودر خون به‌دست آمده از فعالیت کشتارگاه‌ها تنها کود آلی حاوی نیتروژن، آهن، فسفر، هورمون‌های مفید در رشد گیاهان، کمپلکس‌های آلی و اسید آمینه سودمند است (Solomon, 2004). در خاک‌های آهکی فرآیند آزادسازی آهن از پودر خون با سرعت بیشتری انجام می‌شود همچنین در اثر تجزیه آن اسیدیته خاک کاهش می‌یابد (Koenig and Johnson, 1999). آهن خون به شکل کلات بوده که این امر موجب می‌شود آهن از واکنش‌های شیمیایی و تبدیل شدن به شکل‌های غیرقابل استفاده محافظت گردد (Mortvedt, 1986). خون مهم‌ترین فرآورده جانبی تولید شده در کشتارگاه‌ها می‌باشد که تحت فشار و دمای زیاد به پودر خون تبدیل شده و در تغذیه دام و یا به‌عنوان کود استفاده می‌شود (Solomon, 2004). کشتارگاه صنعتی شیراز با ظرفیت کشتار روزانه ۸۵۰ راس دام سبک و ۱۰۰ راس دام سنگین، توان تولید روزانه ۵۰۰ کیلوگرم پودر خون را دارا می‌باشد. بخشی از پودر خون تولید شده به مصرف خوراک دام و طیور می‌رسد و بخش عمده‌ای از آن به هدر می‌رود. از این رو کاربرد این ماده در کشاورزی به منظور حاصلخیزی خاک علاوه بر جلوگیری از هدرروی آن، به رفع مشکلات زیست‌محیطی نیز منجر خواهد گردید.

بادرنجبویه (*Melissa Officinalis* L.) گیاهی دارویی از تیره نعناعیان، علفی چند ساله، با ریزوم چوبی، دارای برگ‌های پهن و تخم‌مرغی شکل به طول ۶-۳ سانتی‌متر که به صورت متقابل روی ساقه قرار می‌گیرند. رنگ برگ‌ها سبز تیره، سطح آنها ناصاف

۱- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران
۲- مربی آموزشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: v.mohasseli@areeo.ac.ir)
DOI: 10.22067/gsc.v17i3.74666

بوده و برجستگی‌های متعددی دارند. ساقه این گیاه راست با مقطع چهار گوش بوده و به ارتفاع ۶۰–۴۰ سانتی‌متر می‌باشد (Omidbaigi, 2008). گل‌ها در قسمت فوقانی ساقه و در ناحیه زاویه بـرگ‌ها تشکیل می‌شوند. بذوراین گیاه چنانچه در شرایط مناسبی نگهداری شوند تا چهار سال از قوه رویشی مناسبی برخوردارند. هرچند سرزمین اصلی این گیاه منطقه مدیترانه، عراق، ایران، پاکستان، ترکمنستان و جنوب و شرق اروپا می‌باشد اما در حال حاضر در سرتاسر نقاط جهان کشت می‌شود (Omidbaigi, 2008). در مطالعات متعددی که بر روی این گیاه انجام گرفته خواص گوناگونی برای آن به اثبات رسیده است که از رایج‌ترین این خواص می‌توان به آرام‌بخشی، آنتی‌اکسیدانی، رفع تنگی نفس، زکام، تب و لرز، تقویت حافظه، تقویت اعصاب و ضد نفخ اشاره کرد (Nahedkennedy *et al.*,2006). مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس بادرنجبویه راسیترونلال (۲۰ تا۵۰ درصد) تشکیل می‌دهد. سیترال، ژرانیول، لینالول، استات اوگنول و تانن از دیگر ترکیبات اسانس این گیاه دارویی می‌باشند. همچنین اسانس بادرنجبویه به مقدار بسیار کم حاوی موادی مانند رزمارینیک اسید، فنولیک اسید یک کربنه، فلدونوئید، فلاونول‌های رامنوسیترین، رامنازین و ایزوکوئرسیترین و مواد پکتیکی می‌باشد. اسانس این گیاه مایعی بی‌رنگ یا به رنگ زرد روشن یا زرد مایل به خاکستری و دارای بوی بسیار مطبوع شبیه بوی لیمو می‌باشد که اگر اسانس برگ گیاه قبل از گل‌دهی به‌دست آمده باشد این بو محسوس‌تر خواهد بود (De Carvalho *et al.*, 2011).

آهن به‌عنوان یکی از عناصر ضروری برای رشد گیاه نقش فیزیولوژیکی مهمی را در گیاهان بر عهده دارد (Blakrishman *et al.*,2000). آهن در واکنش‌های اکسایش و احیاء، ساختمان ترکیبات پروتئینی مانند سیتوکروم‌ها و فردوکسین و فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند کاتالاز و پراکسیداز نقش مهمی را ایفا می‌نماید (Amuamuha *et al.*, 2012). تحقیقات نشان داد که کمبود آهن سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاه می‌گردد (Mohasseli *et al.*,2016). در بین عناصر کم‌مصرف، آهن نقش کلیدی در تشکیل کلروفیل و فتوسنتز داشته و از اهمیت زیادی در سیستم آنزیمی و تنفس گیاهان برخوردار می‌باشد. بنابراین کاربرد آن اثر مثبت بر تولید ماده خشک گیاه خواهد داشت. در مقابل از مهم‌ترین اثرات کمبود آهن، کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی است که نتیجه آن افزایش نسبی کارتنوئیدها در مقایسه با کلروفیل بوده که در نهایت سبزینگی برگ‌ها و توان فتوسنتزی آنها را کاهش می‌دهد (Briat *et al.*,2007). محلول‌پاشی آهن سبب افزایش در عملکرد ماده خشک و درصد اسانس گیاه نعنا فلفلی گردید (Zehtab–Salmasi *et al.*, 2008). همچنین مشاهده شد که عملکرد اسانس ریحان در اثر محلول‌پاشی آهن افزایش می‌یابد (Said-Al Ahl and Abeer, 2010). نتایج مطالعات محققان نشان داد که کاربرد آهن سبب افزایش مقدار اسانس در گیاه می‌گردد (Bagheri *et al.*, 2013). عمدتاً کمبود آهن در خاک‌های آهکی در نواحی خشک مشاهده می‌شود. بالا بودن میزان بی‌کربنات در آب آبیاری و خاک ممکن است کمبود آهن را تشدید کند. به‌علاوه جذب آهن در خاک‌هایی که مواد آلی پایینی دارند کاهش می‌یابد (Havlin *et al.*, 2005).

کلروز آهن به‌عنوان یکی از گسترده‌ترین و شدیدترین مشکلات تغذیه گیاهان در سطح جهانی مطرح می‌باشد. این عارضه در خاک‌های آهکی و قلیایی و از جمله قسمت اعظم خاک‌های ایران بر روی گیاهان مشاهده می‌شود. با توجه به این که علل بروز کلروزآهن در خاک‌های آهکی کمبود مطلق آن نیست بلکه به علت شرایط شیمیایی این خاک‌ها است که آهن موجود به‌صورت ترکیبات غیرمحلول درآمده و در نتیجه نیاز گیاه را ازنظر آهن مرتفع نمی‌نماید لذا کاربرد کودهای آلی می‌تواند کلروز آهن را معالجه کند اما این کودها بسیار گران بوده لذا ترکیبات آلی طبیعی و همچنین غنی شده از آهن نیز می‌توانند در برطرف نمودن کلروز آهن موثر باشند که خون یک ترکیب طبیعی است که حاوی مقدار قابل توجهی آهن می‌باشد. آهن خون به صورت آلی در بخش هم مولکول هموگلوبین قرار داشته و خصوصیاتی شبیه کلات‌های مصنوعی دارد (Yunta *et al.*, 2013). در واقع تغذیه صحیح گیاهان دارویی آن هم از طریق روش‌های ارگانیک و زیستی نقش به‌سزایی در تولید اسانس این گیاهان دارد. با توجه به نقش مهم آهن در افزایش رشد گیاهان لذا مدیریت تغذیه این عنصر می‌تواند بر رشد بهینه و میزان اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه مؤثر باشد. بنابراین تحقیق حاضر به منظور مطالعه توان پودر خون در تأمین آهن مورد نیاز گیاه دارویی بادرنجبویه به مرحله اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس واقع در شرق شهرستان شیراز با موقعیت جغرافیایی ۵۲/۳۵ درجه شرقی، ۲۹/۳۴ درجه شمالی و ارتفاع ۱۵۰۶ متر از سطح دریا به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاًتصادفی با ۷ تیمار و در ۳ تکرار اجرا گردید. تیمارهای مورد استفاده شامل کود سکسترین آهن در ۳ سطح (صفر، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک) و پودر خون در ۴ سطح (صفر، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ گرم پودر خون در کیلوگرم خاک) بود. پودر خون مورد نیاز از کشتارگاه صنعتی شیراز واقع در کیلومتر ۱۰ جاده شیراز سروستان تامین شد. نحوه تهیه پودر خون در کشتارگاه فوق بدین صورت است که خون حاصل از کشتار دام‌ها تحت حرارت و فشار زیاد به پودر خون تبدیل می‌گردد. برخی ویژگی‌های شیمیایی پودر خون مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است. جهت اجرای این آزمایش مقدار ۴ کیلوگرم خاک با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مشخص (جدول ۲) داخل گلدان‌های پلاستیکی

ریخته و تعداد ۵ بوته بادرنجبویه تقریباً یکنواخت که مراحل آماده‌سازی آن در خزانه انجام گردیده بود به هر گلدان انتقال یافت. در طول مدت آزمایش وضعیت رشد گیاهان مورد بررسی و یادداشت‌برداری‌های لازم انجام و آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر تا حد ظرفیت مزرعه، از طریق توزین گلدان‌ها صورت گرفت. پس از اتمام دوره رشد رویشی، گیاهان به‌صورت دستی برداشت و پس از شستشو با آب مقطر جداگانه بسته‌بندی گردید.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های شیمیایی پودر خون مورد استفاده

Table 1- Some of chemical properties of Blood powder used

ویژگی‌های پودر خون Blood powder properties	مقدار Amount
pH اسیدیته	5.30
Raw protein(%) پروتئین خام	43.75
P(%) فسفر	0.56
K(mg kg^{-1}) پتاسیم	500
Ca(mg kg^{-1}) کلسیم	7500
Mg(mg kg^{-1}) منیزیم	4000
Fe(mg kg^{-1}) آهن	1000
Zn(mg kg^{-1}) روی	81
Cu(mg kg^{-1}) مس	< 0.05
Mn(mg kg^{-1}) منگنز	5

جدول ۲- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 2- Some of physical and chemical properties of soil tested

ویژگی‌های خاک Soil properties	مقدار Amount	روش اندازه‌گیری Measurement method
Texture بافت	Loam	Bouyoucos (1962)
pH اسیدیته	7.5	Peech (1965)
قابلیت هدایت الکتریکی EC (ds m^{-1})	1.2	
OM (%) ماده آلی	1.19	Walkley and Black (1934)
ظرفیت تبادل کاتیونی CEC (Cmol kg^{-1})	12.5	Chapman (1965)
کلسیم کربنات معادل (%) CCE	41.7	Allison and Moodie (1965)
(µg gr^{-1} soil)P فسفر	4.5	Olsen *et al.* (1954)
(µg gr^{-1} soil)K پتاسیم	250	Knudsen *et al.* (1982)
(µg gr^{-1} soil)Fe آهن	2.12	Lindsay and Norvell (1978)

غلظت آهن

در ابتدا نمونه‌های گیاهی را در دمای ۷۰ درجه سلسیوس تا ثابت شدن وزن نمونه‌ها خشک نموده سپس نمونه‌ها را جهت تهیه خاکستر در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرار داده و خاکستر فوق را در اسیدکلریدریک ۲ نرمال حل و عصاره به‌دست آمده را از کاغذ صافی عبور داده سپس توسط دستگاه جذب اتمی (Model 3030, Perkin Elmer, Wellesley, MA) غلظت آهن اندازه‌گیری گردید (Jones, 1984).

غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها

جهت اندازه‌گیری غلظت کلروفیل وکاروتنوئیدها بایستی از نمونه‌هایی که برای تازه نگهداشتن آنها از قبل در نیتروژن مایع نگهداری شده‌اند استفاده نمود. براساس روش آرنون (Arnon, 1967) کلروفیل وکاروتنوئیدهای هر یک از نمونه‌های گیاهی با استفاده از استون ۸۰ درصد استخراج و پس از واسنجی دستگاه توسط استون ۸۰ درصد (شاهد)، جذب نوری در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج (PD-303UV, Kawaguchi, Saitama, Japan) تعیین شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر غلظت‌های کلروفیل a وb و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه محاسبه گردید.

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 * A663 - 0.86 * A645)\ V/100W$$
$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 * A645 - 3.6 * A663)\ V/100W$$
$$\text{Carotenoides} = 100(A470) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/227$$

در این فرمول‌ها V حجم محلول صاف شده (سانتی‌مترمکعب)، W وزن تر نمونه (گرم) استفاده شده و A جذب نوری در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر می‌باشد.

استخراج اسانس گیاه

استخراج اسانس با استفاده از روش کارلس و سیمون (Charles and Simon, 1990) توسط تقطیر با آب در دستگاه کلونجر به مدت ۴-۳ ساعت انجام پذیرفت. در ابتدا ۱۰۰ گرم ماده خشک گیاهی پودر شده را به همراه آب مقطر درون بالن مخصوص دستگاه ریخته و عمل اسانس‌گیری با حرارت دادن بالن آغاز گردید. دو ساعت پس از شروع جوشیدن محلول، دستگاه را خاموش نموده و پس از سرد شدن، اسانس استخراج شده توسط لوله‌های باریک جمع‌آوری نموده سپس توزین و در نهایت میزان و درصد اسانس گیاه تعیین گردید. در حین جمع‌آوری اسانس از دستگاه کلونجر باید دقت کرد که اسانس حتی‌الامکان عاری از آب گردد، زیرا در صورت وجود رطوبت امکان انجام برخی واکنش‌ها بین آب و اجزای خاصی از اسانس وجود دارد. بدین منظور درون ظروف حاوی اسانس مقدار کمی سولفات سدیم خشک برای رطوبت‌گیری ریخته شد. عملکرد اسانس در واحد گلدان بر اساس حاصل‌ضرب عملکرد زیست‌توده و درصد اسانس محاسبه گردید (Evans, 1996).

تجزیه‌های آماری

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل درقالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ سطح آهن و ۴ سطح پودر خون در۳ تکرار بر روی گیاه بادرنجبویه به مرحله اجرا درآمد. داده‌های به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای محاسبه میانگین‌ها از آزمون

Duncan استفاده شده و محاسبه احتمال معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح ۵ درصد انجام شد. رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

وزن خشک اندام هوایی

همان طور که جدول ۳ نشان می‌دهد کاربرد آهن و پودر خون سبب افزایش معنی‌داری در وزن خشک اندام هوایی گیاه بادرنجبویه گردید. حداکثر وزن خشک گیاه ۱۴۱/۴ گرم در گلدان در شرایط مصرف آهن و پودر خون به‌ترتیب به میزان ۲/۵ میلی‌گرم و ۱/۵ گرم در کیلوگرم اندازه‌گیری شد که معادل ۲۲/۵ درصد افزایش نسبت به شاهد (بدون مصرف آهن و پودر خون) می‌باشد. حداقل وزن ماده خشک گیاه ۱۱۵/۴ گرم در گلدان در شرایط عدم کاربرد آهن و پود خون به‌دست آمد. نتایج موجود نشان می‌دهد که میانگین وزن ماده خشک گیاه در سطوح ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم به‌ترتیب ۱۳۳/۹ و ۱۳۰/۴ گرم در گلدان می‌باشد که نسبت به تیمار شاهد (۱۲۵/۴ گرم در گلدان) به‌ترتیب از ۶/۸ و ۴/۱ درصد افزایش برخوردار است. همچنین میانگین ماده خشک گیاه در سطوح ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ گرم پودر خون در کیلوگرم نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۶/۴، ۹/۶ و ۱۱/۶ درصد افزایش را نشان می‌دهد. بنابراین جهت افزایش ماده خشک گیاه بادرنجبویه کاربرد توام ۲/۵ میلی‌گرم آهن و ۱/۵ گرم پودر خون در کیلوگرم توصیه می‌شود. بهبود شرایط تغذیه‌ای و نقش مثبت آهن می‌تواند در فتوسنتز و عملکرد فتوسیستم‌های نوری در افزایش شاخص‌های رشد موثر باشد. تاثیر مثبت آهن بر عملکرد ماده خشک گیاهی به دلیل افزایش بیوسنتز اکسین، فعالیت فسفواینول پیروات کربوکسیلاز و ریبوز بی‌فسفات کربوکسیلاز، غلظت کلروفیل و کارآیی جذب عناصر می‌باشد هر چند در شرایط مصرف بالاتر از نیاز، این عنصر به‌عنوان فلز سنگین تعادل عناصر غذایی و فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را تحت تاثیر قرار داده و در نهایت موجب کاهش عملکرد ماده خشک گیاهی می‌گردد (Preeti *et al.*, 2007).

جدول ۳- تاثیر سطوح مختلف آهن و پودر خون بر وزن خشک اندام هوایی، غلظت کلروفیل a وb و کاروتنوئیدها در گیاه بادرنجبویه

Table 3- Effect of different levels of iron and Blood powder on shoot dry weight, chlorophyll a and b and carotenoids concentrations in Melissa

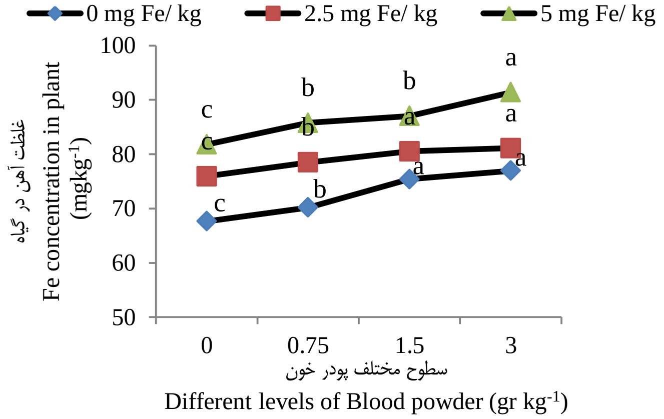
سطح آهن Fe level (mg kg^{-1})	Different levels of Blood powder (gr kg^{-1}) سطوح مختلف پودر خون				میانگین Mean
	0	0.75	1.5	3	
	Aerial dry weight (gr pot^{-1}) وزن خشک اندام هوایی				
0	115.42d	129.02b	131.04b	126.00b	125.37B
2.5	121.13c	132.05b	141.45a	140.79a	133.86A
5	128.02b	126.67b	127.01b	140.11a	130.45A
Mean	121.52C	129.25B	133.17AB	135.63A	
	Essential oil yield (mg pot^{-1}) عملکرد اسانس				
0	282.29i	459.98h	585.58f	596.13f	480.99C
2.5	500.14g	739.70e	931.61c	881.08c	763.13B
5	836.01d	910.27c	1032.68b	1153.14a	983.03A
Mean	539.48D	703.32C	849.96B	876.78A	
	Chlorophyll a concentration (mg g^{-1} FW) a غلظت کلروفیل				
0	1.15d	1.29cd	1.46c	1.84b	1.44B
2.5	1.44c	1.71b	1.75b	2.30a	1.80A
5	1.66bc	1.90b	2.11ab	2.43a	2.03A
Mean	1.42C	1.63BC	1.77B	2.19A	
	Chlorophyll b concentration (mg g^{-1} FW) b غلظت کلروفیل				
0	0.56e	0.53e	0.64d	0.81a	0.64B
2.5	0.64d	0.67cd	0.71c	0.80a	0.71A
5	0.68c	0.75b	0.72bc	0.79a	0.75A
Mean	0.63C	0.65BC	0.69B	0.80A	
	Carotenoids concentration (mg g^{-1} FW) غلظت کاروتنوئیدها				
0	0.29c	0.28c	0.34b	0.33b	0.31B
2.5	0.29c	0.32b	0.34b	0.32b	0.32B
5	0.34b	0.33b	0.37a	0.34b	0.35A
Mean	0.31B	0.31B	0.35A	0.33AB	

برای هر یک از پاسخ‌های گیاهی، میانگین‌هایی که در هر ردیف یا در هر ستون در یک حرف بزرگ و یا میانگین‌هایی که در متن جدول در یک حرف کوچک مشترک هستند، طبق آزمون دانکن در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Numbers followed by the same letter are not significantly different using Duncan test (P<0.05)

غلظت آهن در گیاه

با افزایش سطوح مصرفی آهن، غلظت این عنصر در گیاه افزایش نشان داد (شکل ۱). به‌طوری‌که بیشترین غلظت آهن گیاه (۹۱/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم) مربوط به سطح سوم آهن (۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک) در شرایط کاربرد ۳ گرم پودر خون در کیلوگرم به‌دست آمد که در واقع معادل ۳۵/۱ درصد افزایش در غلظت آهن نسبت به شاهد می‌باشد. کمترین غلظت آهن (۶۷/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) مربوط به سطح اول آهن (بدون مصرف آهن) در شرایط عدم کاربرد پودر خون می‌باشد. همانطور که افزایش سطوح کاربرد آهن سبب بالا رفتن غلظت آن در گیاه گردید همچنین کاربرد پودر خون نیز باعث افزایش غلظت آهن در گیاه شد (شکل ۱). به‌طوری‌که کاربرد پودر خون در سطوح اول، دوم و سوم آهن به‌ترتیب سبب ۱۳/۸، ۶/۸ و ۱۱/۷ درصد افزایش در غلظت آهن گیاه گردید. نتایج به‌دست آمده بیانگر این است که با کاربرد آهن و پودر خون فراهمی آهن در خاک افزایش یافته و در نتیجه جذب آن توسط گیاه بیشتر شده و غلظت آن در اندام هوایی افزایش می‌یابد. محققان نیز نتیجه گرفتند کاربرد خون حیوانات در کاهش کمبود آهن در انگور بسیار موثر است (Tessarin *et al.*, 2013). بررسی‌ها نشان داد که می‌توان از پودر خون به‌عنوان یک منبع موثر در تامین آهن مورد نیاز گیاه استفاده نمود زیرا آهن موجود در آن به شکل آهن قابل جذب گیاه (Fe^{2+}) می‌باشد (Yunta *et al.*, 2013). محققان پس از مطالعه بر روی پودر خون بیان داشتند که توانایی پودر خون در برطرف نمودن علائم کمبود آهن در سویا به اندازه کود سکسترین موثر است. به‌طوری که بین غلظت آهن در گیاهانی که پودر خون دریافت کرده بودند با گیاهانی که با Fe EDDHA تیمار شده بودند اختلاف معنی‌داری به‌دست نیامد (Kalbasi and Shariatmadari, 1993). تحقیقات نشان داد که مصرف ۷۰ گرم پودر خون برای هر درخت گلابی *Pirus Communis* L. معادل کاربرد ۱۸۰ میلی‌گرم آهن می‌باشد. همچنین مشاهده گردید که مصرف این میزان پودر خون سبب کاهش علائم کمبود آهن در درختان گلابی شد (Tagliavini *et al.*, 2000).



شکل ۱- تاثیر سطوح مختلف آهن و پودر خون بر غلظت آهن در گیاه بادرنجبویه

(میانگین‌های دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

Figure 1- Effect of different levels of iron and Blood Powder on Fe concentration in Melissa plant

(Means with the same letters, indicated significant difference at 5% probability level).

غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاه

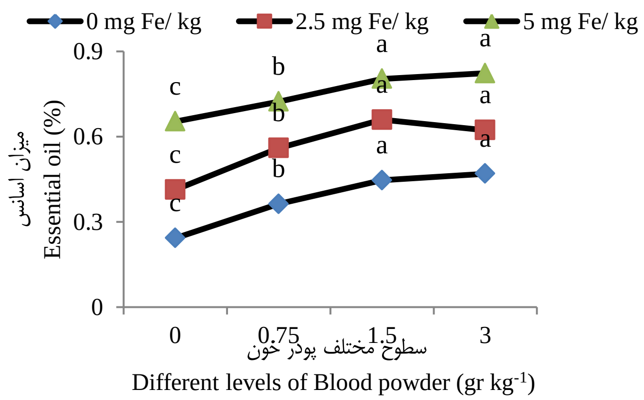
همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود کاربرد آهن سبب افزایش معنی‌داری در غلظت کلروفیل a گیاه گردید. میانگین غلظت کلروفیل a در اثر مصرف ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک از ۱/۴ به ۲ میلی‌گرم در گرم افزایش یافت که معادل ۴۱ درصد افزایش می‌باشد. کاربرد پودر خون نیز به‌طور معنی‌داری غلظت کلروفیل a را در گیاه افزایش داد به‌طوری‌که مصرف ۳ گرم پودر خون در کیلوگرم غلظت آن را به مقدار ۵۴/۲ درصد بالا برد. غلظت کلروفیل b نیز مانند کلروفیل a در اثر مصرف آهن و پودر خون افزایش نشان داد (جدول ۳). کاربرد ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک سبب ۱۷/۲ درصد (۰/۶ به ۰/۷ میلی‌گرم در گرم) افزایش در غلظت کلروفیل b شد. غلظت کلروفیل b نیز در اثر مصرف ۳ گرم پودر خون در کیلوگرم ۲۷ درصد (۰/۶ به ۰/۸ میلی‌گرم در گرم) افزایش نشان داد. حداکثر و حداقل غلظت کلروفیل b به‌ترتیب ۰/۸ (در شرایط عدم مصرف آهن و ۳ گرم پودر خون در کیلوگرم) و ۰/۵ میلی‌گرم در گرم (در شرایط کاربرد ۰/۷۵ گرم پودر خون در کیلوگرم و عدم مصرف آهن) اندازه‌گیری گردید. غلظت کاروتنوئیدها با کاربرد آهن و پودر خون افزایش نشان داد (جدول ۳). میانگین غلظت کاروتنوئیدها در سطوح اول، دوم و سوم آهن به‌ترتیب ۰/۳۱، ۰/۳۲ و ۰/۳۵ میلی‌گرم در گرم و در سطوح اول تا چهارم پودر خون به‌ترتیب ۰/۳۱، ۰/۳۱، ۰/۳۵ و ۰/۳۳ میلی‌گرم در گرم به‌دست آمد. حداکثر غلظت کاروتنوئیدها ۰/۳۷ میلی‌گرم در گرم در شرایط کاربرد ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم در سطح سوم مصرفی پودر خون و حداقل آن ۰/۲۸ میلی‌گرم در گرم در شرایط عدم مصرف آهن همراه با کاربرد ۰/۷۵ گرم پودر خون در

کیلوگرم اندازه‌گیری گردید. به نظر می‌رسد که افزایش کلروفیل می‌تواند ناشی از نقش عملکردی آهن در فعال‌سازی سنتز پروتئین، بیوسنتز کلروفیل و برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در مسیر حفاظت از تخریب کلروفیل توسط رادیکال‌های فعال اکسیژن باشد (Blakrishman *et al.*, 2000).

درصد و عملکرد اسانس گیاه

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد در همه سطوح مصرفی آهن و پودر خون میزان اسانس نسبت به شاهد افزایش داشته است. بیشترین درصد اسانس (۰/۸ درصد) با کاربرد آهن و پودر خون به‌ترتیب به میزان ۵ میلی‌گرم و ۳ گرم در کیلوگرم که معادل ۲۴۱/۷ درصد افزایش نسبت به شاهد (بدون مصرف آهن و پودر خون) می‌باشد و کمترین مقدار آن (۰/۲ درصد) در شرایط عدم مصرف آهن و پودر خون به‌دست آمد. در واقع به‌دلیل این که آهن سبب افزایش توان فتوسنتزی و زیاد شدن پیش‌سازهای ترکیبات فنولی مورد نیاز برای سنتز اسانس‌ها در گیاه می‌شود لذا مصرف این عنصر سبب افزایش تولید اسانس می‌گردد (Dubey *et al.*, 2003). مطالعات نشان داد که گیاهان دارویی در طول دوره رشد و تولید مواد موثره به میزان مناسبی از عناصر کم‌مصرف نیاز دارند. به‌طوری که تامین کافی آن‌ها تعداد غدد ترشح‌کننده اسانس و به‌دنبال آن میزان اسانس را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Pirzad *et al.*, 2013).

کاربرد آهن و پودر خون به‌طور معنی‌داری سبب بالا رفتن عملکرد اسانس گیاه بادرنجبویه گردید (جدول ۳). هرچند سطح دوم آهن (۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) سبب افزایش بیشتری نسبت به سطح قبلی آن گردید. مصرف پودر خون نیز فقط در دو سطح دوم و سوم آن سبب افزایش قابل ملاحظه‌ای در عملکرد اسانس شد. به‌طوری که حداکثر عملکرد اسانس ۱۱۵۳/۱ میلی‌گرم در گلدان در شرایط مصرف آهن و پودر خون به‌ترتیب به میزان ۵ میلی‌گرم و ۳ گرم در کیلوگرم اندازه‌گیری شد که معادل ۳۰۸/۵ درصد افزایش نسبت به شاهد (بدون مصرف آهن و پودر خون) می‌باشد. حداقل عملکرد اسانس گیاه ۲۸۲/۳ میلی‌گرم در گلدان در شرایط عدم کاربرد آهن و پودر خون به‌دست آمد. مطالب فوق بیانگر این واقعیت است که با افزایش غلظت آهن در خاک جذب این عنصر توسط گیاه افزایش می‌یابد اما با توجه به کم‌مصرف بودن این عنصر در نتیجه در غلظت‌های پایین باعث تحریک بیشتر رشد، فتوسنتز و توسعه پوشش گیاهی می‌شود که به‌دنبال آن عملکرد اسانس و ماده خشک نیز افزایش می‌یابد (Preeti pande *et al.*, 2007; Said-Al Ahl *et al.*, 2010). از آنجا که عملکرد اسانس حاصل‌ضرب مقدار اسانس در وزن ماده خشک اندام هوایی گیاه می‌باشد لذا با افزایش صفات مذکور، عملکرد اسانس نیز افزایش می‌یابد. مطالعات محققان نشان داد که مصرف عناصر کم‌مصرف در سطوح پایین ضمن گسترش سطح برگ، سبب افزایش تعداد غدد ترشح‌کننده و میزان اسانس در گیاه نعناع فلفلی گردید (Zehtab-Salmasi *et al.*, 2008). با توجه به نقش آهن در ساختمان کلروپلاست بنابراین کاربرد این عنصر سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه شده که این فزایش منجر به تولید بیشتر غده‌های ترشح‌کننده اسانس در برگ می‌شود (Evans, 1996). تحقیقات بر روی گیاه نعناع نشان داد که مصرف آهن و روی افزایش رشد گیاه، ترکیبات آروماتیک و درصد اسانس را به‌دنبال داشت (Zehtab-Salmasi *et al.*, 2008). اسانس‌ها از گروه شیمیایی ترپن‌ها هستند و با توجه به این که واحد سازنده ترپن‌ها از جمله ایزوپنتیل پیروفسفات و دی‌متیل‌آلیل پیروفسفات نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند لذا فتوسنتز و فرآورده‌های آن ارتباط مستقیمی با تولید اسانس گیاه دارند زیرا همبستگی بین فتوسنتز و تولید اسانس نشان می‌دهد که گلوکز به‌عنوان پیش ماده مناسب برای تولید NADPH و ATP در سنتز اسانس و به‌ویژه مونوترپن‌ها عمل می‌کند (Dubey *et al.*, 2003).



شکل ۲- تاثیر سطوح مختلف آهن و پودر خون بر میزان اسانس گیاه بادرنجبویه

(میانگین‌های دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

Figure 2- Effect of different levels of iron and Blood powder on essential oil of Melissa plant

(Means with the same letters, indicated significant difference at 5% probability level).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش، کاربرد کود سکسترین آهن و پودر خون سبب افزایش ماده خشک گیاهی، غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها و میزان اسانس گیاه بادرنجبویه گردید. هر چند در سطوح بالای این تیمارها سبب افزایش کمتری در رشد و در نتیجه عملکرد اسانس گردید. با توجه با تاثیر مثبت مصرف آهن بر عملکرد اسانس گیاه بادرنجبویه و از طرفی دیگر با در نظر گرفتن گرانی کودهای آلی حاوی آهن لذا کاربرد پودر خون در کشت و کار این گیاه دارویی توصیه می‌شود. همچنین با توجه به عدم بروز علائم ظاهری سمیت در سطوح بالای آهن مصرف شده، بنابراین کشت و کار گیاه بادرنجبویه در خاک‌های دارای آلودگی متوسط آهن پیشنهاد می‌گردد. هر چند انجام تحقیقات بیشتری در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

References

1. Allison, L. E., and Moodie, C. D. 1965. Carbonate. P. 1379–1396. *In* C. A. Black et al. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2, Monograph No. 9, American Society of Agronomy, Madison, WI.
2. Amuamuha, L., Pirzad, A., and Hadi, H. 2012. Effect of varying concentrations and time of Nanoiron foliar application on the yield and essential oil of Pot marigold. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 3 (10): 2085-2090.
3. Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in plants. Agronomy Journal 23: 112-121.
4. Bagheri, A., Rahmani, A., and Abbaszadeh, B. 2013. The effect of iron chelate foliar application on damask rose. Journal of Biological Research 4 (4): 53-55.
5. Blakrishman, K., Rajendran, C., and Kulandaivelu, G. 2000. Differential responses of iron, magnesium, and zinc deficiency on pigment composition, nutrient content and photosynthetic activity in tropical fruit crops. Photosynthetic Activity 38: 477-479.
6. Briat, J. F., Curie, C., and Gaymard, F. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. Current Opinion in Plant Biology 10: 276-282.
7. Bouyoucos, C. J. 1962. Hydrometer method improved for making particle-size analysis of soils. Agronomy Journal 54: 464-465.
8. Chapman, H. D. 1965. Cation-exchange capacity. P. 891–903. *In* C. A. Black et al. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2, American Society of Agronomy. Madison, WI.
9. Charles, D. J., and Simon, J. E. 1990. Comparison of extraction methods for rapid determination of essential oil content and composition of basil. Journal of the American Society for Horticultural Science 115 (3): 458-462.
10. De Carvalho, N. C., Correa-Angeloni, M. J., Leffa, D. D., Moreira, J., Nicolau, V., and De Aguiar Amaral, P. 2011. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic potential of Melissa officinal is in mice. Genetics and Molecular Biology 34 (2): 290-297.
11. Dubey, V. S., Bhalla, R., and Lithra, R. 2003. Sucrose mobilization in relation to essential oil biogenesis during palmarosa (*Cymbopogon martini* Roxb. Wats. var. motia) inflorescence development. Biological Sciences 28 (4): 479-487.
12. Evans, W. C. 1996. Pharmacognosy.14th Edition. Chapter 21. Volatile Oils and Resins. John Wiley, New York, 259-260 pp.
13. Jones, J. B. 1984. Plants. In: Williams, S. (ed.). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. pp.: 38-64. Arlington, Virginia, USA.
14. Havlin, J. L., Beaton, J. D., Tisdale, S. L., and Nelson, W. L. 2005. Soil fertility and fertilizer: An Introduction to Nutrient Management. Upper Saddle River, Newjersey, United States. pp. 515.
15. Kalbasi, M., and Shariatmadari, H. 1993. Blood powder, a source of iron for plants. Journal of Plant Nutrition 16: 2213-2223.
16. Knudsen, D., Peterson, G. A., and Part, P. F. 1982. Lithium, sodium and potassium, pp. 225-246. *In* A. L. Page *et al*. (ed.) Methods of soil analysis. Part II, 2nd ed., Monograph No. 9, American Society of Agronomy, Madision, Wisconsin.
17. Koenig, R., and Johnson, M. 1999. Selection and using organic fertilizers. Utah State University Extension. Department of Agriculture.
18. Lindsay, W. L., and Norvell, W. A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Science Society of America Journal 42: 421-428.
19. Mohasseli, V., Khoshgoftarmanesh, A. H., and Shariatmadari, H. 2016. The effect of air pollution on leaf iron (Fe) concentration and activity of Fe-dependent antioxidant enzymes in Maple. Water, Air, & Soil Pollution 227 (12): 1-11.
20. Mortvedt, J. J. 1986. Iron sources and management practices for correcting iron cholrosis problem. Journal of Plant Nutrition 9: 967-974.
21. NahedKennedy, D. O., Little, W., Haskell, C., and Scholey, A. B. 2006. Anxiolytic effects of a combination of *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis* during laboratory induced stress. Phytotherapy Research 20: 96-102.

22. Olsen, S. R. C., Cole, V., Watanabe, F. S., and Dean, L. A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA Cir. 939, U.S. Government, Printing Office, Washington, DC.
23. Omidbaigi, R. Production and Processing of medicinal plants (In Persian). Astan'eQods'eRazavi publication. Vol 3. Tehran-Iran. 2008, 397pp.
24. Peech, M. 1965. Hydrogen ion activity. P. 922-923. *In* C. A. Black et al. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2, American Society of Agronomy, Madison, WI.
25. Pirzad, A., Toosi, P., and Darvishzadeh, R. 2013. Effect of iron and zinc soluble application on plant traits and essential oil content of anise. Journal of Agricultural Sciences of Iran 15 (1): 12-23. (in Persian).
26. Preetipande, M., Anwar, S. C., Yadov, V., and Patra, D. 2007. Optimal level of Iron and Zinc in relation to its influence on herb yield and protection of essential oil in menthol mint. Communications in Soil Science and Plant Analysis 38: 561-578.
27. Said-Al Ahl, H. A. H., and Abeer, A. M. 2010. Effect of zinc and / or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. Ozean Journal of Applied Sciences 3 (1): 97-111.
28. Solomon, S. 2004. Organic Gardener's Composting. Chapter 4. All About Materials. p: 49-66.
29. Tagliavini, M., Abadía, J., Rombola, A. D., Abadia, A., Tsipouridis, C., and Marangoni, B. 2000. Agronomic means of the control of iron deficiency chlorosis in deciduous fruit trees. Journal of Plant Nutrition 23: 2007-2022.
30. Tessarin, P., Yunta, F., Ingrosso, E., ConceiçaoBoliani, A., Covarrubias, J. A., and Rombola, A. D. 2013. Improvement of grapevine iron nutrition by a bovine blood-derived compound. ActaHorticulturae13: 984-992.
31. Walkley, A., and Black, T. A. 1934. An examination of the Degljareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29-38.
32. Yunta, F., Di Foggia, M., Bellido Diaz, V., Morales Calderon, M., Tassarin, P., and DomenicoRombola, A. 2013. Blood meal-based compound. Good choice as iron fertilizer for organic farming. Journal of Agricultural and Food Chemistry 61: 3995-4003.
33. Zehtab–Salmasi, S., Heidari, F., and Alyari, H. 2008. Effect of micronutrients and plant density on biomass and essential oil production of peppermint (*Mentha piperita* L.). Plant Sciences Research 1 (1): 24-28.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 17, No. 3, Fall. 2019, p. 457-465

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۷، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۸، ص. ۴۶۵-۴۵۷

The Possibility of Replacing Blood Powder Instead of Fe EDDHA Consumption in *Melissa Officinalis* L.

V. Mohasseli[1*], F. Farbood[2]

Received: 08-08-2018
Accepted: 14-04-2019

Introduction

Iron deficiency is found mainly in plants in calcareous and alkaline soils. Regarding the fact that chemical conditions of the soils are main cause of iron chlorosis, and because of chalet fertilizers are expensive therefore, use of organic and iron-rich organic compounds such as blood powder can be effective in removal of iron chlorosis. Blood can have a beneficial effect on more dissolution of iron compounds. One kg of blood contains 20-30 g iron in ferrous form (Fe^{2+}) in hemoglobin molecule. Therefore, it can use as an effective source of iron. Blood powder is only organic fertilizers containing nitrogen, iron, phosphorus, organic complexes and amino acids useful hormones in plants growth. The process of iron liberation from Blood powder is carried out more rapidly in calcareous soils. Further, decomposition of it reduces soil reaction. Iron is chalet form in Blood which it makes to protect Fe from chemical reactions and conversation into non available forms. Therefore, the purpose of this study was to investigate potential of blood powder in supplying iron of *Melissa Officinalis* L.

Materials and Methods

The experiment was performed as factorial in a completely randomized design with three levels of Fe-EDDHA (Zero , 2.5 and 5 mg Fe kg^{-1} soil) and 4 levels of Blood powder (Zero, 0.75, 1.5 and 3 g blood powder kg^{-1} soil) in Three replication on *Melissa Officinalis* L. medicinal plant. There were measured dry weight, concentration of Fe, chlorophyll a and b, carotenoids and essential oil content after the end of vegetative growth period.

Results and Discussions

The results showed that application of Fe-EDDHA and Blood powder increased significantly shoot dry weight, concentration of Fe, chlorophyll, carotenoids and essential oil yield in plant. The maximum of plant dry weight was 141.4 $g.pot^{-1}$ under conditions of Fe EDDHA and Blood powder intake of 2.5 mg and 1.5 g kg^{-1} respectively, which it was equal to 22.5% higher than control. Consumption of 5 mg Fe and 3 $g.kg^{-1}$ blood powder caused 35.1% increase in Fe concentration compared to control. Blood powder consumption increased 13.8, 6.8 and 11.7% in the first, second and third levels of iron, respectively. Chlorophyll b concentration was increased 17.2 and 23.0% by application of mg Fe and 3 g blood powder kg^{-1} soil, respectively. Concentration averages of carotenoids were 0.31, 0.32 and 0.35 $mg.g^{-1}$ in the first, second and third levels of iron, respectively. But the averages were 0.31, 0.31, 0.35 and 33.3 $mg.g^{-1}$ in the first to fourth levels of blood powder, respectively. The amount of essential oil was increased at all levels of iron and blood powder compared to control, which it was obtained 241. 7% increasing with compared to control by application of iron and blood powder of 5 mg and 3 $g.kg^{-1}$, respectively. The same amount of iron and blood powder produced the maximum essential oil yield (304.5% higher compared to control).

Conclusions

In general, the results of the study showed that application of Fe-EDDHA and blood powder increased plant dry matter, iron, chlorophyll and carotenoids concentration and essential oil content of *Melissa Officinalis* L. However, at higher levels of these treatments, it caused a lower growth in growth and essential oil yield. Regarding the positive effect of iron intake on essential oil yield of *Melissa Officinalis* L. and on the other hand, considering the cost of iron organic fertilizers, the use of blood powder is recommended in the cultivation of the medicinal plant. Also, due to the lack of apparent symptoms of toxicity at high levels of iron thus, cultivation of Melissa plant is suggested in soils with a medium of Fe pollution. Although it seems more research is needed in this regard.

Keywords: Amount and yield of essential oil, Dry weight, Iron, Organic compounds

1 and 2- Assistant Professor and Member of Scientific Board, respectively, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran
(*- Corresponding Author Email: v.mohasseli@areeo.ac.ir)